



تولیات دامی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۳

صفحه‌های ۱۲۵-۱۲۳

بررسی اثر پنیرک (*Malva Sylvestris*) بر تجزیه پذیری و فراسنجه‌های تخمیر علوفه آتریپلکس در شرایط آزمایشگاهی

ایران خدادادی^۱، طاهره محمدآبادی^{۲*}، مرتضی چاچی^۳، محسن ساری^۲

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ملائانی-ایران

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ملائانی-ایران

۳. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ملائانی - ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۱۴

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۱۰

چکیده

این آزمایش برای بررسی اثر سطوح گوناگون پنیرک (صفر، ۲۰، ۴۰، و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم علوفه آتریپلکس) بر تجزیه پذیری و فراسنجه‌های تخمیر علوفه آتریپلکس در شتر تک‌کوهانه انجام گرفت. فراسنجه‌های تخمیر با تکنیک تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی با روش هضم دمرحله‌ای به کمک دو نفر شتر تک‌کوهانه ماده دوساله دارای فیستولای شکمبه اندازه‌گیری شد. افزودن پنیرک در دو سطح ۴۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم علوفه موجب افزایش معنی دار حجم گاز تولیدی از علوفه آتریپلکس شد ($P < 0/05$)، ولی ثابت نرخ تولید گاز تحت تأثیر افزودن پنیرک قرار نگرفت. اضافه کردن پنیرک (۶۰ میلی گرم در کیلوگرم) به آتریپلکس میزان عامل جداکننده، تولید توده میکروبی، راندمان تولید توده میکروبی، و ماده آلی واقعاً هضم شده را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0/05$). افزودن ۴۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم پنیرک به علوفه آتریپلکس pH محیط‌های کشت را کاهش داد ($P < 0/05$). در مقایسه با تیمار شاهد بالاترین غلظت نیتروژن آمونیاکی مربوط به تیمار حاوی ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم پنیرک (۱۱/۷۳ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) بود ($P < 0/05$). همچنین این تیمار بیشترین هضم پذیری NDF را در مقایسه با تیمار شاهد داشت ($P < 0/05$). افزودن پنیرک در سطوح ۲۰، ۴۰، و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم به آتریپلکس موجب افزایش تراکم گونه‌های پروتوزوئرها در زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت در مقایسه با ۴۸ ساعت انکوباسیون شد ($P < 0/05$). گونه‌های دیپلودینیوم کملی، دیپلودینیوم مگی، اپیدینیوم ایکوداتوم، و یودیپلودینیوم مگی در تیمارهای حاوی پنیرک تراکم بالاتری داشتند ($P < 0/05$). براساس نتایج تحقیق حاضر، تخمیر بالای پنیرک می‌تواند به بهبود قابلیت هضم و تولید گاز علوفه آتریپلکس در جیره شتر تک‌کوهانه بیانجامد.

کلیدواژه‌ها: آتریپلکس، پروتوزوئرها، پنیرک، تولید گاز، قابلیت هضم.

مقدمه

بخشند (۱۴). پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* L. گیاه دارویی چندساله از خانواده Malvaceae است. برگ‌های گیاه حاوی موسیلاژها (شش تا هشت درصد) و فلاونوئیدها است و گل‌ها حاوی ۱۰ درصد موسیلاژ و آنتوسیان‌ها مانند مالوین هستند (۱). افزون بر آن پنیرک تانن، قند، اگزالات، مواد رزینی، و پکتیکی دارد (۴). مقدار تانن پنیرک به ترتیب در دامنه ۱/۸۶-۲/۱۸ و ۱/۱۸-۰/۸۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک برای برگ‌ها و دم‌برگ است. همچنین ترکیبات فنولی پنیرک در دامنه ۱۵/۱۱-۱۱/۸۲ و ۱/۴۰-۱/۹۷ میلی‌گرم در گرم و محتوای فلاونوئید آن به ترتیب ۲۷/۱۸-۲۱/۸۵ و ۳/۵۰-۴/۹۵ میلی‌گرم در گرم برای برگ‌ها و دم‌برگ گزارش شد (۴۲). عصاره پنیرک رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی را متوقف می‌کند (۱۹).

طبق نتایج موجود، در صورت عدم وجود پروتوزوئرها تجزیه الیاف گیاهی با کاهش قابل توجهی مواجه می‌شود. بعضی از گونه‌های گیاهی حاوی ترکیبات ثانویه‌ای هستند که روی جمعیت میکروبی (همچون پروتوزوئرها) اثر می‌گذارند و الگوی تخمیر شکمبه را تغییر می‌دهند (۱۸). با توجه به آثار مثبت گیاهان دارویی بر تخمیر شکمبه و اطلاعات محدود در زمینه استفاده از گیاهان دارویی (چون پنیرک) در جیره شتر، هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی تأثیر گیاه دارویی پنیرک بر بهبود تخمیر شکمبه‌ای، قابلیت هضم علوفه آتریپلکس، و مورفولوژی پروتوزوئرها در شتر تک‌کوهانه است.

مواد و روش‌ها

گیاه کامل پنیرک از منطقه ملاثانی اهواز و آتریپلکس از جنوب غرب خوزستان جمع‌آوری و در معرض هوا خشک شدند. ترکیب شیمیایی دو گیاه تعیین شد. تیمارهای آزمایشی شامل علوفه آتریپلکس (شاهد) به همراه ۲۰، ۴۰،

گیاهان مرتعی شورپسند با پروتئین کم و دیواره سلولی بالا همچون سلمکی ساقه‌سفید یا آتریپلکس (*Atriplex leuococlada*) از منابع گیاهی هستند که شتر استفاده می‌کند (۹). آتریپلکس متعلق به خانواده اسفنجیان (*Chenopodiaceae*) است و این خانواده در حدود ۳۰۰ گونه گیاهی که اغلب در خاک‌های شور، مناطق بیابانی با دمای بالا، و مناطق گرمسیری یافت می‌شوند را در برمی‌گیرد (۴۴). اثر منفی برخی گیاهان شورزیست بر رشد، تولید، و سلامت نشخوارکنندگان ممکن است ناشی از ترکیب شیمیایی نامناسب، پایین بودن قابلیت هضم مواد مغذی، وجود ترکیبات سمی، و پایین بودن خوش‌خوراکی این گیاهان باشد (۲۹). از متابولیت‌های ثانویه موجود در این گیاه می‌توان تانن، کاردیک گلایکوزید، فلوتائین، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، کومارین، استروئیدها، و ساپونین را نام برد (۲۸). اگر علوفه‌های این گیاه در پاییز و انتهای فصل رویشی از مراتع برداشت شود، در این مرحله از سن، دیواره سلولی گیاه ضخیم‌تر و لیگنینی می‌شود و قابلیت هضم مواد مغذی آن کاهش می‌یابد (۱۵). تغییرات اندک در قابلیت هضم می‌تواند موجب تغییر نسبتاً بزرگی در مصرف اختیاری حیوان شود (۴۷).

گیاهان دارویی به دلیل ارزش اقتصادی بالا و هزینه کم تولید، و نداشتن تأثیر تخریبی بر محیط زیست، ارزش و جایگاه خاصی در درمان بیماری‌ها و همچنین تغذیه دام دارند (۵). امروزه تمایل به استفاده از گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها برای دستکاری فلور میکروبی دستگاه گوارش، تنظیم تخمیر، بهبود اکولوژی شکمبه، و بهبود استفاده از مواد مغذی در حیوانات اهلی افزایش یافته است (۳۳). بنابراین گیاهان دارویی به‌عنوان تغییردهنده‌های تخمیر شکمبه‌ای، ممکن است با افزایش بازده استفاده از انرژی در شکمبه، بهره‌وری حیوان از مواد خوراکی را بهبود

تولیدات دامی

میکروبی با روابط ۲، ۳، و ۴ اندازه گیری شد (۱۱). PF بیان کننده نسبت تجزیه واقعی ماده آلی به حجم گاز تولید شده در دوره های زمانی انکوباسیون (معمولاً ۲۴ یا ۴۸ ساعت) است.

(۲)

میلی لیتر گاز تولید شده/ میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده=PF

(۳)

(PF-۲/۲)×گاز تولیدی =توده میکروبی

(۴)

ماده آلی واقعاً تجزیه شده/توده میکروبی=راندمان سنتز توده میکروبی برای محاسبه تجزیه دیواره سلولی، محتوای سرنگ ها تخلیه و سپس صاف شدند و به مدت ۲۴ ساعت در آن خشک گردیدند. با کم کردن ماده اولیه و مواد باقیمانده بعد از آن، میزان تجزیه دیواره سلولی محاسبه شد (۴۸).

pH محیط کشت ها با دستگاه pH متر (متروم مدل ۶۹۱، سوییس) در زمان ۱۲۰ ساعت و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط ها با روش فنول هیپوکلرایت و دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد (۱۸). برای بررسی جمعیت پروتوزوئرها، نمونه ها از محیط کشت گاز در زمان های ۱۲، ۲۴، و ۴۸ ساعت گرفته شد (از هر نوبت دو تکرار برای هر زمان) و پنج سی سی از آن با حجم مساوی از فرمالدهید ۱۸/۵ درصد مخلوط و پس از رنگ آمیزی با متیلن بلو در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شدند (۲۷). شمارش پروتوزوئرها با میکروسکوپ نوری (مدل NIS-Elements F 3.0) با بزرگ نمایی ۴۰ انجام شد. سپس جنس و گونه های گوناگون پروتوزوئرها تشخیص داده شد و نتایج شمارش به صورت تعداد پروتوزوئرها در هر میلی لیتر مایع شکمبه گزارش شدند (۳۴).

قابلیت هضم تیمارهای آزمایشی با روش هضم دومرحله ای (۴۳)، در لوله های آزمایش ۱۰۰ میلی لیتری که حاوی ۰/۵ گرم نمونه، ۴۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی (بافر

و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم پنیرک بودند. در این آزمایش از دو نفر شتر تک کوهانه ماده دوساله دارای فیستولای شکمبه ای که به مدت هشت هفته با جیره بر پایه کاه و یونجه (نسبت ۱:۱) همراه با مقدار کمی آتریپلکس تغذیه شده بودند، استفاده شد. تخمیر آزمایشگاهی با روش تولید گاز (۳۳) در سرنگ های شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتری که حاوی ۳۰۰ میلی گرم نمونه، ۲۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی، و ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه بود، اندازه گیری شد (دو نوبت و در هر کدام ۱۲ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد). دو سرنگ بدون نمونه به عنوان بلانک برای کنترل فعالیت مایع شکمبه در نظر گرفته شد. مایع شکمبه لازم از آن شترها قبل از خوراک دهی صبح، جمع آوری و با استفاده از پارچه متقال چهارلایه صاف شد. سپس با حجم مناسبی (نسبت ۱:۲ بزاق مصنوعی و مایع شکمبه) از بزاق مصنوعی مخلوط شد. محیط با گاز دی اکسید کربن بی هوازی شد. میزان گاز تولیدی در ساعات دو، چهار، هشت، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، و ۱۲۰ ساعت پس از قراردادن سرنگ ها در حمام آب گرم ثبت شد. از رابطه ۱ برای توصیف روند تخمیر در روش تولید گاز استفاده شد:

(۱)

$$P=b(1-e^{-ct})$$

در این رابطه، P پتانسیل تولید گاز، b بخش دارای پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر گاز تولیدی به ازای ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک)، c نرخ تولید گاز (درصد در ساعت)، و t مدت قراردادن نمونه در حمام آب گرم است. پس از پایان انکوباسیون، محتوای سرنگ ها با محلول شوینده خنثی به مدت یک ساعت جوشانده شد. سپس محلول صاف شد. باقی مانده در آن خشک و سپس به کوره منتقل و خاکستر شد. سرانجام ماده آلی واقعاً هضم شده محاسبه شد و براساس آن عامل جداکننده (Partitioning Factor-PF)، توده میکروبی، و راندمان توده

تولیدات دامی

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی دو گیاه آتریپلکس و پنیرک در جدول ۱ آورده شده است. سطوح ۴۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم حجم گاز تولیدی از آتریپلکس را در مقایسه با شاهد و سطح ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم افزایش داد ($P < 0.05$). بالاترین پتانسیل تولید گاز مربوط به تیمار آتریپلکس همراه با ۶۰ میلی گرم پنیرک بود و از این نظر با سایر تیمارها تفاوت داشت ($P < 0.05$) (جدول ۲). اثر تیمارها بر نرخ تولید گاز معنی دار نبود. احتمالاً ترکیب شیمیایی، متابولیت‌های ثانویه موجود در آتریپلکس، و همچنین مرحله بلوغ و زمان برداشت علوفه (اواخر پاییز و در مرحله خواب گیاه)، روی پتانسیل تولید گاز آتریپلکس تأثیر گذاشته است. بین میزان لیاف غیر قابل حل در شوینده اسیدی، لیاف غیر قابل حل در شوینده خنثی، و میزان لیگنینی بودن آن‌ها با قابلیت هضم رابطه منفی وجود دارد (۴۰). قسمت‌های هوایی علوفه آتریپلکس حاوی تانن، فلاونوئیدها، ترپن‌ها، آلکالوئیدها، کومارین، و ساپونین است (۲۸). میزان اگزالات و تانن آن در فصل پاییز به ترتیب دو و ۶/۲ درصد ماده خشک گزارش شده است (۱۷). تانن‌های متراکم با اتصال به کربوهیدرات‌ها و تشکیل کمپلکس لیگنوسلولز، همچنین مهار میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها، هضم میکروبی را کاهش می‌دهند (۲۳). همچنین ساپونین موجود در گیاهان گرمسیری، پروتوزوئرها را از بین می‌برد و باعث کاهش تولید متان می‌شود (۴۱). به نظر می‌رسد بالابودن میزان کربوهیدرات‌های قابل حل در پنیرک موجب دسترسی سریع میکروارگانیسم‌ها به مواد مغذی در ساعات اولیه انکوباسیون و افزایش تولید گاز می‌شود (۳). کم بودن مقدار فیبر غیر قابل حل در شوینده خنثی و اسیدی و در نتیجه بالابودن بخش کربوهیدرات غیر لیافی در پنیرک احتمالاً موجب سهولت هضم و تخمیر تیمارهای حاوی پنیرک در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد (جدول ۱).

مک دوگال، و ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه بود (نسبت ۱:۴)، اندازه‌گیری شد. لوله‌های حاوی مخلوط بزاق و مایع شکمبه، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، پنج میلی لیتر آنزیم پپسین (مرک-۷۸۵) همراه با شش میلی لیتر اسیدکلریدریک ۲۰ درصد به هر لوله اضافه شد و بعد از ۴۸ ساعت (هضم شیردانی) مواد باقیمانده شسته و در آون (۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. قابلیت هضم ماده خشک و لیاف غیر قابل حل در شوینده خنثی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم محاسبه شد.

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS (رویه GLM) نسخه ۹/۲ برای مدل ۵ تجزیه و میانگین‌ها به کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

(۵)

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

در این رابطه، Y_{ij} مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین جامعه، T_j تأثیر تیمار، و ε_{ij} خطای آزمایشی است.

داده‌های مربوط به جمعیت و ریخت‌شناسی پروتوزوئرها به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی برای مدل ۶ تجزیه و میانگین‌ها به کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

(۶)

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

در این رابطه، Y_{ij} نشان‌دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین جامعه، α_i اثر تیمار، β_j اثر زمان‌های نمونه‌برداری، $(\alpha\beta)_{ij}$ تأثیرات متقابل فاکتورها، و ε_{ij} خطای باقیمانده است.

تولیدات دامی

جدول ۱. ترکیب شیمیایی آتریپلکس و پنیرک

ترکیب شیمیایی (درصد)					
ADF	NDF	خاکستر	پروتئین خام	ماده خشک	
۴۵/۵۵	۶۹/۱۶	۱۷/۵۶	۶/۶۹	۹۵	آتریپلکس
۱۶/۰۰	۳۵/۰۰	۱۶/۷۲	۲۰/۱۱	۱۱/۷۶	پنیرک

جدول ۲. اثر سطوح گوناگون پنیرک بر فراسنجه های تولید گاز علوفه آتریپلکس پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون

تیمار	پتانسیل تولید گاز	
	(میلی لیتر / ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
آتریپلکس (شاهد)	۲۵/۸۳ ^c	۰/۰۳۴
آتریپلکس + ۲۰ میلی گرم پنیرک	۲۷/۸۳ ^c	۰/۰۳۷
آتریپلکس + ۴۰ میلی گرم پنیرک	۳۱/۴۳ ^b	۰/۰۳۴
آتریپلکس + ۶۰ میلی گرم پنیرک	۳۵/۵۸ ^a	۰/۰۴۲
SEM	۰/۶۷۲	۰/۰۰۲۳

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

رازیانه (دارای ترکیبات مشابه با پنیرک) نیز گزارش شده است (۳۹). باتوجه به محیط های کشت تیمارهای حاوی پنیرک، pH کمتری داشتند ($P < 0.05$) (جدول ۴). بیشتر از ۸۴ درصد خاکستر گیاهان شورزی در شکمبه ناپدید می شود، بنابراین مواد معدنی آزاد شده در شکمبه بر ظرفیت بافری محتوای شکمبه تأثیر می گذارند (۲۰). بنابراین بالابودن pH در تمامی تیمارها را می توان به محتوای خاکستر موجود در آتریپلکس (۱۷/۵۶ درصد ماده خشک) نسبت داد. با افزایش سطوح پنیرک در این آزمایش، مقدار کربوهیدرات های قابل حل نیز افزایش یافته است که این امر به افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار و کاهش pH می انجامد. بالاترین غلظت نیتروژن آمونیاکی مربوط به تیمار حاوی ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم پنیرک بود که تفاوت

استفاده از گیاهان شورزیست همچون آتریپلکس به شکل مخلوط با خوراک های دیگر، باعث کاهش تأثیرات سمی و اثر منفی عوامل ضد تغذیه ای (چون اگزالات و تانن) موجود در آنها می شود (۱۱). افزودن پنیرک به آتریپلکس، میزان عامل جداکننده (PF)، توده میکروبی تولید شده، بازده تولید توده میکروبی، و ماده آلی هضم شده حقیقی را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0.05$) (جدول ۳). کمترین مقدار توده میکروبی تولیدی و همچنین کمترین بازده تولید آن در تیمار حاوی ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم پنیرک مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$). تفاوتی بین تیمارها از نظر میزان تجزیه دیواره سلولی مشاهده نشد. کاهش PF هنگام استفاده از گیاهان دارویی دیگر مانند

تولیدات دامی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۳

تفاوتی بین تیمارها از نظر قابلیت هضم ماده خشک مشاهده نشد، ولی قابلیت هضم الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی با افزودن پنیرک به آتریپلکس افزایش یافت ($P < 0/05$) (جدول ۵).

معنی داری با تیمار شاهد داشت ($P < 0/05$). آتریپلکس دارای ترکیبات ثانویه ای چون ساپونین و تانن است که با تأثیر بر تجزیه پروتئین، باعث کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی می شوند. ساپونین با تشکیل کمپلکس ساپونین-پروتئین، قابلیت هضم پروتئین را کاهش می دهد (۳۸).

جدول ۳. اثر سطوح مختلف پنیرک بر خصوصیات تخمیر آتریپلکس پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون در محیط گاز

تیمار	$^1PF^*$	*توده میکروبی	بازده تولید توده میکروبی (%)	ماده آلی هضم شده حقیقی (%)	تجزیه دیواره سلولی (%)
آتریپلکس (شاهد)	۸/۴۸ ^a	۸۱/۵۷ ^a	۷۴/۰۰ ^a	۱۱۰/۱۵ ^a	۳۷/۰۰
آتریپلکس + ۲۰ میلی گرم پنیرک	۵/۰۴ ^b	۳۹/۲۹ ^b	۵۷/۰۰ ^b	۶۹/۶۵ ^b	۳۲/۰۰
آتریپلکس + ۴۰ میلی گرم پنیرک	۴/۹۷ ^b	۴۱/۳۸ ^b	۵۶/۰۰ ^b	۷۴/۲۵ ^b	۳۳/۰۰
آتریپلکس + ۶۰ میلی گرم پنیرک	۳/۳۷ ^c	۲۱/۱ ^c	۳۵/۰۰ ^c	۶۰/۷۰ ^b	۲۷/۰۰
SEM	۰/۵۳	۴/۱۰	۰/۳۰	۵/۵۴	۵/۱۰

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی دار است ($P < 0/05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

۱: عامل جداکننده، میلی گرم ماده آلی واقعا هضم شده به میلی لیتر گاز تولید شده

*: میلی گرم بر میلی لیتر گاز تولید شده

جدول ۴. اثر افزودن پنیرک به علوفه آتریپلکس بر فراسنجه های تخمیری

تیمار	PH	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر مایع شکمبه)
آتریپلکس (شاهد)	۷/۳۸ ^a	۷/۵۴ ^b
آتریپلکس + ۲۰ میلی گرم پنیرک	۷/۳۶ ^{ab}	۱۱/۷۳ ^a
آتریپلکس + ۴۰ میلی گرم پنیرک	۷/۳۴ ^{bc}	۹/۶۵ ^{ab}
آتریپلکس + ۶۰ میلی گرم پنیرک	۷/۳۱ ^c	۹/۴۵ ^{ab}
SEM	۰/۰۰۶	۰/۹۱

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی دار است ($P < 0/05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

تولیدات دامی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۳

جدول ۵. اثر سطوح گوناگون پنیرک بر هضم پذیری آزمایشگاهی علوفه آتریپلکس

تیمار	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)	قابلیت هضم ایلاف نامحلول در شوینده خشتی (درصد)
آتریپلکس (شاهد)	۳۷/۳۰	۱۵/۳۲ ^b
آتریپلکس + ۲۰ میلی گرم پنیرک	۴۰/۷۰	۲۸/۳۰ ^a
آتریپلکس + ۴۰ میلی گرم پنیرک	۳۸/۷۰	۲۸/۱۹ ^a
آتریپلکس + ۶۰ میلی گرم پنیرک	۳۸/۳۰	۲۷/۹۳ ^a
SEM	۰/۰۲۶	۳/۳۰۳

a-b: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

جمعیت پروتوزوئرها در آتریپلکس های حاوی پنیرک که به مدت ۱۲ ساعت در شرایط انکوباسیون قرار گرفتند، از سایر ترکیبات تیماری بیشتر بود ($P < 0.05$) (جدول ۷). تفاوت معنی داری در جمعیت کل پروتوزوئرها در جیره های گوناگون بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون مشاهده نشد. برهم کنش زمان و جیره بر گونه های پروتوزوئرها مؤثر بود و باعث شد که بیشترین جمعیت گونه دیپلودینیوم کملی در زمان ۱۲ ساعت و جیره آتریپلکس حاوی ۴۰ میلی گرم پنیرک مشاهده گردد ($P < 0.05$). افزایش زمان انکوباسیون موجب حذف گونه دیپلودینیوم کملی در زمان ۲۴ ساعت در جیره آتریپلکس حاوی ۲۰ و ۶۰ میلی گرم پنیرک و در زمان ۴۸ ساعت در تمامی جیره ها شد. گونه دیپلودینیوم مگی فقط در زمان ۱۲ ساعت و در آتریپلکس های حاوی پنیرک مشاهده شد. در زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون، بیشترین جمعیت گونه اپیدینیوم ایکوداتوم مربوط به جیره های آتریپلکس حاوی ۲۰، ۴۰، و ۶۰ میلی گرم پنیرک و کمترین جمعیت در جیره شاهد بود ($P < 0.05$). گونه یودیپلودینیوم مگی در جیره های حاوی پنیرک، فقط در زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون شناسایی شد. در این زمان جمعیت آن در جیره آتریپلکس حاوی ۴۰ و ۶۰ میلی گرم پنیرک بیشتر از جیره حاوی ۲۰ میلی گرم پنیرک بود ($P < 0.05$).

هنگام برداشت علوفه های مرتعی در پاییز و در انتهای فصل رویشی این گیاهان، به دلیل افزایش سن گیاه، دیواره سلولی ضخیم تر، و لیگنینی تر است و قابلیت هضم مواد مغذی آن کاهش می یابد. در جیره حاوی پنیرک احتمالاً به علت محتوای NDF کمتر و بالابودن میزان قندهای محلول، قابلیت هضم افزایش یافته است. به نظر می رسد باتوجه به متفاوت بودن میزان NDF بین آتریپلکس و پنیرک و به دنبال آن تیمارهای حاوی مقادیر گوناگون پنیرک، قابلیت هضم تحت تأثیر قرار می گیرد. طبق گزارش ها، گیاهان دارویی حاوی متابولیت های ثانویه، از طریق تغییر در جمعیت میکروبی باعث بهبود هضم میکروبی در شکمبه گوسفند می شوند که این امر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۷).

جمعیت پروتوزوئرها در تیمارهای حاوی پنیرک بیشتر بود ($P < 0.05$) (جدول ۶). بیشترین جمعیت دیپلودینیوم کملی در جیره حاوی ۴۰ میلی گرم پنیرک مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین جیره حاوی ۲۰ میلی گرم پنیرک بیشترین جمعیت اپیدینیوم ایکوداتوم را داشت ($P < 0.05$), دو گونه دیپلودینیوم مگی و یودیپلودینیوم مگی در جیره شاهد مشاهده نشدند. بیشترین تراکم پروتوزوئرها مربوط به زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون بود و تمامی گونه ها در این زمان بیشترین جمعیت را داشتند و با افزایش زمان انکوباسیون، از جمعیت پروتوزوئرها کاسته شد ($P < 0.05$).

تولیدات دامی

جدول ۶. اثر افزودن پنیرک به علوفه آتریپلکس بر جمعیت و ریخت‌شناسی پروتوزوئرها شتر
($\times 10^4$ پروتوزوئرها در میلی‌لیتر مایع شکمبه)

یودیپلودیونیوم مگی	اپیدیونیوم ایکوداتوم	دیپلودیونیوم مگی	دیپلودیونیوم کملی	جمعیت کل ($\times 10^4$)	
					جیره
. ^c	۳/۱۷ ^b	. ^c	۱/۲۳ ^b	۴/۴۰ ^b	آتریپلکس (شاهد)
۰/۲۴ ^b	۴/۳۶ ^a	۰/۵۱ ^a	۰/۵۱ ^d	۵/۶۳ ^a	آتریپلکس + ۲۰ میلی‌گرم پنیرک
۳/۳۸ ^a	۳/۱۵ ^b	۰/۳۹ ^b	۱/۴۶ ^a	۵/۷۷ ^a	آتریپلکس + ۴۰ میلی‌گرم پنیرک
۰/۳۸ ^a	۳/۵۶ ^b	۰/۳۸ ^b	۰/۷۶ ^c	۵/۵۷ ^a	آتریپلکس + ۶۰ میلی‌گرم پنیرک
۰/۰۲۰	۰/۱۹۸	۰/۰۲۳	۰/۰۶۵	۰/۲۹	SEM
					اثر زمان
۰/۵۵ ^a	۷/۲۳ ^a	۰/۹۶ ^a	۲/۳۵ ^a	۱۱/۳۱ ^a	۱۲
. ^b	۲/۶۵ ^b	. ^b	۰/۶۱ ^b	۳/۲۶ ^b	۲۴
. ^b	۱/۴۵ ^c	. ^b	. ^c	۱/۴۵ ^c	۴۸
۰/۰۱۷	۰/۱۷	۰/۰۲۱	۰/۰۵۶	۰/۲۵	SEM
					اثر متقابل زمان \times جیره
. ^c	۶/۳۷ ^b	. ^d	۲/۱۳ ^b	۸/۵ ^b	۱۲
. ^c	۱/۵۳ ^d	. ^d	۱/۵۳ ^c	۳/۰۵ ^{cd}	۲۴
. ^c	۱/۶۵ ^d	. ^d	. ^d	۱/۶۵ ^{de}	۴۸
۰/۷۴ ^b	۷/۶۷ ^a	۱/۵۳ ^a	۱/۵۳ ^c	۱۱/۵ ^a	آتریپلکس + ۲۰ میلی‌گرم پنیرک
. ^c	۳/۷۵ ^c	. ^d	. ^d	۳/۷۵ ^c	۲۴
. ^c	۱/۶۵ ^d	. ^d	. ^d	۱/۶۵ ^{de}	۴۸
۱/۱۶ ^a	۶/۹۶ ^a	۱/۱۶ ^b	۳/۴۸ ^a	۱۲/۷۵ ^a	آتریپلکس + ۴۰ میلی‌گرم پنیرک
. ^c	۱/۸۰ ^d	. ^d	۱/۶۵ ^c	۳/۳۰ ^c	۲۴
. ^c	۱/۲۵ ^d	. ^d	. ^d	۱/۲۵ ^e	۴۸
۱/۱۴ ^a	۷/۹۶ ^a	۱/۱۴ ^c	۲/۲۷ ^b	۱۲/۵۰ ^a	آتریپلکس + ۶۰ میلی‌گرم پنیرک
. ^c	۱/۴۸ ^d	. ^d	. ^d	۲/۹۵ ^{cd}	۲۴
. ^c	۱/۲۵ ^d	. ^d	. ^d	۱/۲۵ ^e	۴۸
۰/۰۳۴	۰/۳۴	۰/۰۴۲	۰/۱۲	۰/۵۱	SEM

a-d: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تولیدات دامی

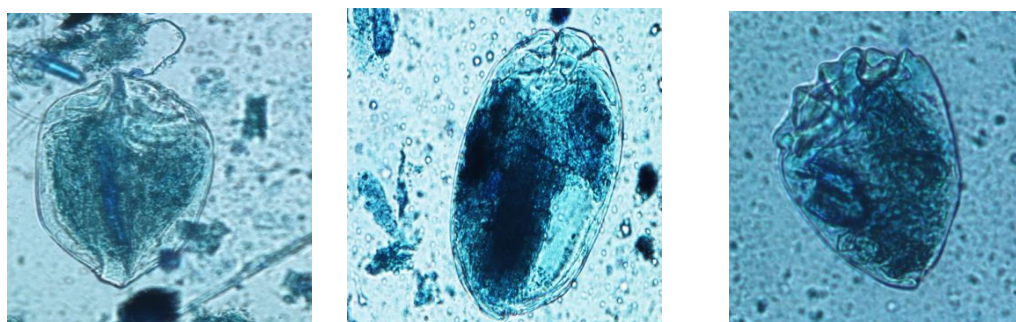
دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۳

پروتئین خام پنیرک باعث کاهش اثر ساپونین شده است. در این تحقیق، فقط چهار گونه دیپلودینیوم کملی، دیپلودینیوم مگی، اپیدینیوم ایکوداتوم، و یودیپلودینیوم مگی شناسایی شد که احتمالاً به دلیل نوع سوبسترای موجود محیط کشت بوده که تنوع گونه‌های پروتوزوئرها را تحت تأثیر قرار داده است (شکل ۱). پروتوزوئرهایی از جنس‌های انتودینیوم، اپیدینیوم، یودیپلودینیوم، و دیپلودینیوم در شتر گزارش شده است (۲۱). همچنین در بررسی تک‌یاخته‌های مژکدار شکمبه در شترهای نژاد بلوچی و سندی، گونه‌های دیپلودینیوم کملی، اپیدینیوم ایکوداتوم، و یودیپلودینیوم مگی شناسایی شده است که با یافته‌های حاصل از این آزمایش هم‌خوانی دارد. تنوع گونه و تعداد پروتوزوئرها می‌تواند بین افراد یک گونه از نشخوارکنندگان و یا بین گونه‌های مختلف متفاوت باشد (۶).

احتمالاً وجود کربوهیدرات‌های محلول و در کل مواد مغذی در دسترس بیشتر با افزایش پنیرک، باعث افزایش تعداد پروتوزوئرها در زمان‌های اولیه انکوباسیون (۱۲ ساعت) در این آزمایش شده است. در مطالعه‌ای اثر تغییر جیره بر جمعیت پروتوزوئرها شکمبه شتر تک‌کوهانه در زمان‌های صفر، هشت، و ۱۶ ساعت خوراک‌دهی بررسی و جمعیت پروتوزوئرها در زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون بیشتر از سایر زمان‌ها گزارش شد (۲۱). براساس نتایج تحقیق حاضر، سطوح بالاتر از ۴۰ میلی‌گرم پنیرک، با گذشت زمان و کاهش مواد مغذی و همچنین وجود مواد ضد تغذیه‌ای در آتریپلکس و پنیرک باعث کاهش جمعیت پروتوزوئرها شده است. ساپونین موجود در گیاهان گرمسیری پروتوزوئرها را از بین می‌برد و باعث کاهش تولید متان و آمونیاک می‌شود (۳۰). در تحقیق حاضر، کاهش اثر ساپونین در اثر افزودن پنیرک و نیز بالابودن



اپیدینیوم اکوداتوم (a: فرم کوداتوم b: فرم اکوداتوم c: فرم اکوداتوم)



دیپلودینیوم مگی

دیپلودینیوم کملی فرم مونواسپیناتوم

یودیپلودینیوم مگی

شکل ۱. انواعی از گونه‌های پروتوزوئرها مشاهده شده در شترهای تک‌کوهانه مطالعه شده در محیط کشت‌ها در این آزمایش (رنگ آمیزی با متیلن‌بلو، با بزرگ‌نمایی ۴۰).

تولیدات دامی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۳

۳. بشارتی م، تقی‌زاده ا، جان‌محمدی ح و مقدم غ (۱۳۸۷) تعیین تجزیه‌پذیری محصولات فرعی انگور با استفاده از روش تولید گاز و کیسه‌های نایلونی. دانش کشاورزی. ۱۸(۳): ۱۷۳-۱۸۵.
۴. ظهوری ه (۱۳۸۳) دایره‌المعارف گیاهان دارویی. انتشارات تحسین. چاپ دوم. ۱۳۹۰.
۵. قاسمی ع (۱۳۸۸) گیاهان دارویی و معطر ایران (شناخت و بررسی اثرات آن‌ها). انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.
۶. علی‌پور د (۱۳۹۱) تک‌یاخته‌های مؤکدار شکمبه در شترهای نژاد سندی و بلوچی. تحقیقات دامپزشکی. ۶۷(۳): ۲۶۳-۲۵۷.

7. Alexander G, Singh B, Sahoo A and Bhat TK (2008) *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Animal of Feed Science Technology*. 145: 229-242.
8. Allen MS (1997) Relationship between ruminal fermentation and requirement for physically effective fiber. *Dairy Science*. 80: 1447-1462.
9. Bareen F and Tahira SA (2011) Metal accumulation potential of wild plant in tannery effluent contaminated soil of Kasur, Pakistan: Field trials for toxic metal cleanup using *Suaeda fruticosa*. *Hazardous Materials*. 186: 443-450.
10. Blummel M and Becker K (1997) The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibre as described by *in vitro* gas production and their relationship to voluntary feed intake. *Nutrition*. 77: 757-786.

خصوصیات ویژه پروتوزوآهای شکمبه و همچنین تضاد بین گونه‌های پروتوزوئرها ممکن است در این تنوع نقش داشته باشد (۲۴). با توجه به بالابودن الیاف سلولزی در جیره‌های مطالعه‌شده بیشتر گونه‌هایی دیده می‌شود که سهم به‌سزایی در هضم الیاف دارند. فعالیت سلولیتیک شکمبه در شترسانان به دلیل حضور میکروارگانسیم‌ها (مخصوصاً پروتوزوئرها یودیلودینیوم و اپیدینیوم) که فعالیت آنزیمی کافی برای هیدرولیز کربوهیدرات‌های دیواره سلولی و تخمیر الیگوساکاریدهای حاصل از هیدرولیز را دارند، بالاست (۴۶). با توجه به اینکه اطلاعات درباره اثر گیاهان دارویی بر مورفولوژی پروتوزوئرها محدود است، به نظر می‌رسد پنی‌رک با ایجاد محیطی مناسب و تأمین مواد مغذی لازم پروتوزوئرها در ساعات اولیه انکوباسیون باعث حفظ گونه‌های ذکر شده شده است. براساس نتایج تحقیق حاضر، افزودن پنی‌رک، قابلیت هضم علوفه آتریپلکس و همچنین افزایش جمعیت پروتوزوئرها را که سهم بسزایی در هضم الیاف دارند، بهبود می‌بخشد. از این رو می‌توان با افزودن پنی‌رک به علوفه آتریپلکس در جیره شترهای تک‌کوهانه، ضمن بهبود ارزش تغذیه‌ای آن، امکان بهره‌برداری بهتر از این خوراک مرتعی را فراهم آورد.

منابع

۱. اهوازی م، رضوانی اقدام ع و حبیبی خانسانی ب (۱۳۸۹) بذر گیاهان دارویی (مورفولوژی، فیزیولوژی و خواص دارویی). انتشارات جهاددانشگاهی واحد تهران. صص ۲۰۲-۱۳۱.
۲. باشتینی ج و توکلی ح (۱۳۸۱) تعیین ارزش پنج گونه غالب از گیاهان شورپسند مناطق کویری استان خراسان. پژوهش و سازندگی. ۵۵: ۵-۲.

تولیدات دامی

11. Blummel M, Makkar HPS and Becker K (1997) *In vitro* gas production - a technique revisited. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 77: 24-34.
12. Broderick GA and Kang JH (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Dairy Science*. 63: 64-75.
13. Broudiscou LP, Papon Y and Broudiscou AF (2000) Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. *Animal Feed Science and Technology*. 87: 263-277.
14. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Carro MD and Kamel C (2005) Effect of Garlic Oil and Four of its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. *Dairy Science*. 88: 4393-4404.
15. Buxton DR, Mertens DR and Fisher DS (1996) Forage quality and ruminant utilisation. In Moser, L. E. *et al.* (eds.). *Cool-season Forage Grasses*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, USA 229-266.
16. Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L and Ferret A (2007) Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Dairy Science*. 90: 2580-2595.
17. Davis AM (1981) The Oxalate, Tannin, Crude Fiber, and Crude Protein Composition of Young Plants of Some *Atriplex* Species. *Range Management*. 34(4): 329-331.
18. Dong GZ, Wang XJ, Liu ZB and Wang F (2010) Effects of phytochemical products on *in vitro* rumen fermentation and methane emission in goats. *Animal and Feed Sciences*. 19: 218-229.
19. Dulgar B and Gonuz A (2004) Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Sciences*. 3(1): 104-107.
20. Emanuele SM, Staples CR and Wilcox CJ (1991) Extent and site of mineral release from six forage species incubated in mobile dacron bags. *Animal Science*. 69: 801-810.
21. Ghali MB, Scott PT and Al Jassim RAM (2005) Effect of diet change on population of rumen protozoa in dromedary camel. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, 15: 27A.
22. Gohl B (1981) *Tropical feeds*. FAO Animal Production and Health Series. 12: 529.
23. Griffiths RA (1986) Feeding niche overlap and food selection in smooth and palmate newts, *T. vulgaris* and *T. helveticus* at a pond in mid-Wales. *Animal Ecology*. 55: 201-214.
24. Hobson PN and Stewart CS (1997) *The Rumen Microbial Ecosystem*. Elsevier Science Publishers Ltd, London and New York.
25. Hoffman PC, Lundberg KM, Bauman LM and Shaver RD (2003) The effect of maturity on NDF digestibility. *Focus on Forage*. 5: 1-3.
26. Hungate RE (1966) *The Rumen and Its Microbes*, Academic press, New York.
27. Ivan M, Mir PS, Koenig KM, Rode LM, Neill L, Entz T and Mir Z (2001) Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. *Small Ruminant Research*. 41(3): 215-227.
28. Khan S and Bano A (2011) Physiological and biochemical analysis of the selected halophytes of district mardan, pakistan. *International Journal of Bioscience Biochemistry and Bioinformatics*. 1(4): 239-243.

29. Kirkpatrick JG, Helman RG, Burrows GE, Tungeln DV, Lehenbauer T and Tyrl RJ (1999) Evaluation of hepatic changes and weight gains in sheep grazing *Kochia. Scoparia*. Veterinary and Human Toxicology. 41: 67-70.
30. Lila ZA, Mohammed N, Kanda S, Kamada T and Itabashi H (2003) Effect of sarsaponin on rumen fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. Dairy Science. 86: 3330-3336.
31. Makkar HPS (2005) In vitro gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Technology. 123(1): 291-302.
32. McDougall EI (1948) Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. Biochemical. 43: 99-109.
33. Menk KH and Stingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development. 28: 6-55.
34. Ogimoto K and Imai S (1981) Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
35. Olivera MP (1998) Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forage. University of Aberdeen, Scotland, M.Sc. Dissertation.
36. Ørskov ER and McDonald I (1979) The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Agricultural Science. 92: 499-503.
37. Patra AK and Saxena K (2010) A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. Phytochemistry 05-010.
38. Potter SM, Jimenez-Flores R, Pollack J, Lone TA and Berber-Jimenez MD (1993) Protein saponin interaction and its influence on blood lipids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 41: 1287-1291.
39. Sallam SMA, Bueno ICS, Brigide P, Godoy PB, Vitti DMSS and Abdalla AL (2009) Investigation of potential new opportunities for plant extracts on rumen microbial fermentation *in vitro*. Options Mediterraneennes: Serie A. Seminaires Mediterraneens. 85: 255- 260.
40. Sallam SMA, Da Silva Bueno IC, De Godoy PB, Eduardo FN, Schmidt Vittib DMS and Abdalla AL (2010) Ruminant fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Tropical and Subtropical Agroecosystems 12: 1-10.
41. Sliwinski BJ, Soliva CR, Machmuller A and Kreuzer M (2002) Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. Animal of Feed Science and Technology. 101: 101-114.
42. Tabaraki R, Yosefi Z and Asadi Gharneh HA (2012) Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. Research in Agricultural Science. 8(1): 59-68.
43. Tilly JMA and Terry RA (1963) A two stage technique for the indigestion of forage crops. British Grassland Society. 18: 104-111.
44. Ullah MA, Naseem AR, Rafiq MK and Rezzaq A (2008) Correlation of Atriplexammicola and soil properties. Agriculture and Biology. 8(3): 394-397.
45. Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Dairy Science. 74: 3583-3597.

46. Walters RJK (1984) D-Value: The significance of small differences on animal performance. Proceeding of the 18th NIAB Crop Conference. Cambridge, UK, pp. 60-68.
47. Williams AG, Ellis AB and Coleman GS (1986) Subcellular distribution of polysaccharide depolymerase and glycoside hydrolase enzymes in rumen ciliate protozoa. Current Option in Microbial. 13: 139-147.
48. Zhang Y, Gao W and Meng Q (2006) Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. Animal Nutrition. 61(2): 114-125.